Dako News vol.2010-1

新製品のお知らせ

NEW

抗ヒトIgA（α鎖）・ウサギポリクローナル抗体/FITC標識
抗ヒトIgD（δ鎖）・ウサギポリクローナル抗体/FITC標識
抗ヒトIgG（γ鎖）・ウサギポリクローナル抗体/FITC標識

- ポリクローナル抗体の特性を生かし高感度で抗原を検出できます。
- 免疫抗原にてアフィニティー精製したポリクローナル抗体ですので、高い特異性を示します。
- 非特異的反応を抑制するため、F(ab')2断片化及びヒト血漿タンパクで固相吸収してあります*。
- Ready-To-Use製品ですので希釈調製が不要で、すぐに使用できます。

＊非特異的反応をできるだけ抑えてはいますが、より正確に分析するため陰性コントロールの併用を推奨しています。

Polyclonal Rabbit Anti-Human
IgA, Specific for Alpha-Chains/FITC
抗ヒトIgA（α鎖）・ウサギポリクローナル抗体/FITC標識

Code	ヤマサ登録名称	標識	容量mL	テスト	希望小売価格	陰性コントロール
F0188	IGA(ALPHA-CHAINS)(RB-F(AB')2)/FITC アフィニティー精製,F(ab')2, ヒト血漿タンパクで固相吸収済み	FITC	1.0	100	49,000	X0929

交差免疫電気泳動法、免疫蛍光抗体法およびELISA法によりヒトIgAのアルファ鎖と特異的に反応することを確認しています。

Polyclonal Rabbit Anti-Human
IgD, Specific for Delta-Chains/FITC
抗ヒトIgD（δ鎖）・ウサギポリクローナル抗体/FITC標識

Code	ヤマサ登録名称	標識	容量mL	テスト	希望小売価格	陰性コントロール
F0189	IGD(DELTA-CHAINS)(RB-F(AB')2)/FITC アフィニティー精製,F(ab')2, ヒト血漿タンパクで固相吸収済み	FITC	1.0	100	49,000	X0929

交差免疫電気泳動法、免疫蛍光抗体法およびELISA法によりヒトIgDのデルタ鎖と特異的に反応することを確認しています。

Polyclonal Rabbit Anti-Human
IgG, Specific for Gamma-Chains/FITC
抗ヒトIgG（γ鎖）・ウサギポリクローナル抗体/FITC標識

Code	ヤマサ登録名称	標識	容量mL	テスト	希望小売価格	陰性コントロール
F0185	IGG(GAMMA-CHAINS)(RB-F(AB')2)/FITC アフィニティー精製,F(ab')2, ヒト血漿タンパクで固相吸収済み	FITC	1.0	100	49,000	X0929

交差免疫電気泳動法、免疫蛍光抗体法およびELISA法によりヒトIgGのガンマ鎖と特異的に反応することを確認しています。

・価格は2010年1月現在のものです。
・ヤマサ登録名と製品ラベル上の品名表記が異なる場合があります（Code No.は同一です）。

製造終了のお知らせ

「ダコ フローサイトメトリー用製品カタログ 2009-2011」のP4ならびにP14に掲載されています下記製品は、2009年で製造を終了いたしました。2009年最終ロット在庫分にて販売を終了いたします。代替品は上記3製品となります。

コード	製品名	ヤマサ登録名称	包装量	代替品
F0056	抗ヒトIgG(g鎖)・ウサギポリクローナル抗体/FITC標識 アフィニティー精製,F(ab')2,ヒト血漿タンパクで固相吸収済み	IGG(GAMMA-CHAINS)(RB-F(AB')2)/FITC	1mL	F0185
F0057	抗ヒトIgA(a鎖)・ウサギポリクローナル抗体/FITC標識 アフィニティー精製,F(ab')2,ヒト血漿タンパクで固相吸収済み	IGA(ALPHA-CHAINS)(RB-F(AB')2)/FITC	1mL	F0188
F0059	抗ヒトIgD(d鎖)・ウサギポリクローナル抗体/FITC標識 アフィニティー精製,F(ab')2,ヒト血漿タンパクで固相吸収済み	IGD(DELTA-CHAINS)(RB-F(AB')2)/FITC	1mL	F0189

ヤマサ醤油株式会社

Dako News vol.2010-1

B細胞における免疫グロブリン（細胞表面グロブリン）の検出

全血検体で細胞表面免疫グロブリンを染色すると、解析に用いた抗ヒトIg抗体が血漿中に含まれる遊離免疫グロブリンに消費され、B細胞表面上の抗原に十分に結合できない場合があります。また、細胞付着免疫グロブリンは非特異反応の原因となります。このため細胞表面免疫グロブリンの染色では、次の点が重要となります。

1.血漿中の遊離免疫グロブリン及び細胞に結合／付着している免疫グロブリンを洗浄除去
2.他動物種（できれば染色に用いる標識抗体と同一種）の免疫グロブリンによるブロッキング
3.使用する標識抗体の至適濃度の検討

ダコ社の抗ヒト免疫グロブリンH鎖抗体は、すべてReady-To-Useで希釈調製が不要です。予め希釈倍率を検討する必要はなく、そのまま使用できます。

免疫グロブリンの検出のための前処理・染色例

1.試薬の準備

・抗ヒト免疫グロブリン抗体/FITC標識(目的のイムノグロブリンによってCode No.F0058、F0185、F0188、F0189を使用)
・ウサギIg用陰性コントロール試薬(Code No.X0929)
・抗ヒトCD19/RPE標識(Code No.R0808医)およびマウスIgG1用陰性コントロール試薬(Code No.X0928)*1
・ウサギ正常イムノグロブリン（未標識）*2
・溶血試薬EsayLyse(Code No.S2364)*3
・PBS緩衝液（0.01mol/L PBS(pH7.4)）および0.5%BSA/PBS緩衝液

*1 :非特異反応の影響を最小限にするため、表面免疫グロブリン検出にはCD19と組み合わせた2カラー分析をお勧めします。
*2 :ヤマサ醤油では該当品を取り扱っておりません。市販品を適宜希釈してご使用下さい。
*3 :使用方法は製品に添付されている取扱説明書をご参照下さい。
医 :体外診断用医薬品

2.検体の調製

＜血漿中および細胞表面付着イムノグロブリンの除去＞
1). 10×10^6個/mLの細胞を含む細胞浮遊液（全血／骨髄）を100 Lずつ試験管に分注します。
2). 0.5%BSA/PBS緩衝液を2mLずつ加え、ボルテックスで軽く混和します。
3). 300×gで5分間遠心分離し、約100 L残して上清を吸引除去します。
4). 操作2)及び3)の操作を2回繰り返します。
＜ブロッキング＞
5). 適宜希釈したウサギ正常イムノグロブリンを10 Lずつ加え、ボルテックスで混和します。
6). 20-25℃で30分間インキュベーションします。
7). 0.5%BSA/PBS緩衝液を2mLずつ加え、ボルテックスでよく混和します。
8). 300×gで5分間遠心分離し、約100 L残して上清を吸引除去します。

3.抗原抗体反応による染色

1). 抗ヒト免疫グロブリン抗体/FITC標識、抗ヒトCD19抗体/RPE標識、陰性コントロール*をそれぞれの試験管に10 L加えて、ボルテックスでゆるやかに混和します。
*:陰性対照として、ウサギIg用陰性コントロール試薬と抗CD19抗体/RPE標識の組み合わせも用意してください。
2). 2-8℃の暗所にて30分間反応させます。

4.赤血球溶血処理

1). EasyLyse添付の取扱説明書にしたがい、溶血処理を行います。
2). 300×gで5分間遠心分離し、ペレットを含む液量が50 L以下になるよう上清を取り除きます。

5.洗浄および浮遊液の調製

1). PBS緩衝液を加え、よく混和します。
2). 0-5℃,300×g,5分間で遠心分離し、ペレットを含む液量が50 L以下になるように上清を取り除きます。
3). 1),2)の操作をもう一度繰り返します。
4). PBS緩衝液を加え、細胞を再浮遊します。

6.フローサイトメーターによる解析

通常の散乱光サイトグラム（FSC/SSCドットプロット）によるゲーティングに加えて、CD19/SSCまたはCD19/FSCのドットプロット上でもCD19陽性細胞をゲーティングすることにより、B細胞のみをゲーティングでき、他の細胞集団の混入による非特異反応の影響を最小限にできます。細胞付着免疫グロブリンの影響が著しい場合、細胞集団全体のバックグラウンド蛍光が強まり、陰性コントロール試薬で設定したカーソルでの陽性率測定が難しい場合がありますので、CD19とのカラー・ドットプロットで、細胞集団の分布パターンを確認してください。また、測定機器の蛍光コンペンセーション不良と混同しないように注意してください。

ダコ社フローサイトメトリー製品はヤマサ醤油株式会社が販売しております。製品に関するご質問、資料請求、購入方法などにつきましては下記販売元　ヤマサ醤油株式会社 診断薬部までお問い合せ下さい。

製造販売元
ダコ・ジャパン株式会社
〒112-0004
東京都文京区後楽2-5-1
住友不動産飯田橋ﾌｧｰｽﾄﾋﾞﾙ
TEL:03(5802)7211　FAX:03(5802)7212
URL:http://www..dako.jp

販売元
ヤマサ醤油株式会社　診断薬部
〒103-0014
東京都中央区日本橋蛎殻町1丁目23番8号
TEL；03(3668)8558　FAX；03(3668)8407
URL:http://www.yamasa.com/shindan/index.htm